Untersuchungen über die Indolbildung aus synthetischen Di- und Tripeptiden des Tryptophans durch verschiedene indolpositive Bakterienarten.

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität zu
Frankfurt am Main

vorgelegt von:

Ludwig Degen
Frankfurt/Main

1954
D 30

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Von der Möglichkeit, Bakterien, die sich morphologisch schlecht unterscheiden lassen, auf Grund ihrer physiologischen Eigenschaften zu bestimmen, wird in der bakteriologischen Technik viel Gebrauch gemacht. Frieber (1921) untersuchte erstmals, wie sich indolpositive Bakterien gegen Derivate des Tryptophans verhalten, in der Hoffnung, Bakterien durch ihr unterschiedliches Verhalten gegenüber freiem Tryptophan und Peptiden mit Tryptophan unterscheiden zu können. Ihm stand als Peptid Glycyl-l-tryptophan zur Verfügung. In dieser Arbeit wurden drei weitere Peptide, verschiedene Peptone und Eiweißstoffe auf ihre Spaltbarkeit zu Indol durch Bakterien auf verschiedene Arten untersucht.

Nach der Methode von Th. Wieland (1950) wurde dl-Tryptophyl-dl-alanin, Glycyl-dl-tryptophyl-dl-alanin und Glycyl-glycyl-dl-tryptophan über die unsymmetrischen Anhydride der Carbobenzoxyverbindungen mit Benzoesäure synthetisiert und anschließend mit Hilfe der Papierchromatographie gereinigt. Die Zwischenprodukte Carbobenzoxy-dl-tryptophan, Carbobenzoxy-dl-tryptophyl-dl-alanin, Carbobenzoxy-glycyl-dl-tryptophyl-dl-alanin und Carbobenzoxy-glycyl-glycyl-dl-tryptophan wurden erstmals hergestellt und beschrieben.

In den Versuchen wurde das Verhalten folgender Bakterienstämme gegenüber den obengenannten Peptiden und Carbobenzoxy-dl-tryptophan geprüft: Escherichia coli O_1 und NO_8, Salmonella eastbourne, Shigella ambigua, Shigella flexneri M_5 und M_{51}, Proteus OX_2 und OX_{19} und Haemophilus influenzae.- Wachstumsversuche in synthetischen Nährlösungen nach Zipfel und Fränkel mit Zusatz der synthetischen Peptide zeigten, daß aus diesen von allen geprüften Bakterienstämmen Indol gebildet wird; dagegen erfolgt eine Spaltung von Carbobenzoxy-dl-tryptophan nicht.- Suspensionen von gewaschenen Bakterien in Phosphatpuffer pH 7,8 (D. D. Woods 1935)

zeigten das gleiche Verhalten. Hier konnte durch die Papierchromatographie darüberhinaus gezeigt werden, daß die Peptide, auch wenn durch Zellgifte die Indolbildung gehemmt wird, in die einzelnen Aminosäuren aufgespalten werden.

Das Verhalten von E. coli NO8 gegenüber synthetischen Peptiden wurde durch quantitative Bestimmungen des Indols nach der Methode von Happold und Hoyle (1934), indem das Indol mit Petroläther ausgeschüttelt wurde und die Dichte der kirchroten Lösung in p-Dimethylaminobenzaldehydlösung mit einem Zeiss Elektrospektrophotometer (Elko II) gemessen wurde, verfolgt und festgestellt, daß die Indolbildung aus den Peptiden bei gleicher Molarität zeitlich hinter der aus freiem Tryptophan zurückliegt. Alle diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß die Peptide zunächst durch ein Gemisch von Peptidasen gespalten werden, bevor Indol gebildet werden kann.

Die Unstimmigkeiten in der Frage der Indolbildung aus Peptonen wurde geklärt. Aus selbst hergestelltem peptisch verdauten Casein wurde durch die obengenannten Bakterienstämme, sowohl in Wachstumsversuchen, als auch in gewaschenen Bakteriensuspensionen Indol gebildet.- In Versuchen mit Suspensionen von Bakterienzellen, die teils durch Zermahlen mit Kieselgur, teils durch Beschallen mit Ultraschall zerstört waren, zeigte sich, daß die frei werdenden Endofermente in der Lage sind, Casein und Eialbumin aufzuspalten, sodaß die Tryptophanase Indol bilden kann.

Literatur:

W. Frieber: Zentralbl. Bakt. I. Orig. **87**, 254, (1921)

F. C. Happold und L. Hoyle: Biochem J. **28**, 1171, (1934)

D. D. Woods: Biochem. J. **29**, 640, (1935)

Lebenslauf

Am 20. März 1927 wurde ich, Ludwig Degen, als einziges Kind des Bankbeamten Jakob Degen und seiner Ehefrau Maria, geb. Wetzel, in Kleinhausen Kreis Bensheim geboren.

Ab Ostern 1934 besuchte ich die Volksschule zu Lorsch/Hess. und ab Ostern 1937 die Oberschule für Jungen in Bensheim a. d. B., die ich 1944 nach Versetzung in die Klasse 8 verließ.

Nach meiner Rückkehr aus der Kriegsgefangenschaft im Jahre 1945, besuchte ich einen Sonderlehrgang für Kriegsteilnehmer vom 8. November 1945 bis 14. Juni 1946 am Realgymnasium Heppenheim. Im Sommersemester 1949 begann ich mit dem Studium der Naturwissenschaften an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt/Main, mit den Fächern Botanik, Zoologie, Chemie und Physik. Zu Beginn des Sommersemesters 1952 erhielt ich von Herrn Prof. Dr. med. H. Schlossberger das Thema meiner Dissertation.

1. Referent: Priv. Doz. Dr. H. Brandis in Vertretung von Prof. Dr. H. Schlossberger

2. Referent: Prof. Dr. C. Montfort

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Dezember 1954

54/175 x.